Mitteilungen über einige experimentelle Krebsforschungen.

Von

Professor **Dr. Uhlenhuth**,
Geheimem Regierungsrat und Direktor im Kaiserlichen Gesundheitsamte,

und

Dr. Weidanz,
Kreisarzt in Bremen, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

Sonderabdruck

aus

„Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte"

Band XXX, Heft 2, 1909.

Ausgegeben im April 1909.

(Verlag von Julius Springer in Berlin.)

Nachdruck ohne Genehmigung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes und der Verlagshandlung nicht gestattet.

Mitteilungen über einige experimentelle Krebsforschungen[1]).

Von

Professor **Dr. Uhlenhuth,**
Geheimem Regierungsrat und Direktor im Kaiserlichen Gesundheitsamte,

und

Dr. Weidanz,
Kreisarzt in Bremen, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

In nachstehendem sei uns gestattet, über einige im Kaiserlichen Gesundheitsamte von uns ausgeführte Versuche auf dem Gebiete der Krebsforschung ganz kurz zu berichten. Wenn sie auch nichts wesentlich Neues bringen, so erscheinen sie uns doch der Veröffentlichung wert. Wir beschränken uns darauf, lediglich die Versuchsergebnisse kurz darzulegen.

Technik der Impfung.

Die Überimpfung wurde zuerst in der Weise ausgeführt, daß bei den Versuchstieren die Hautstelle durch Rasieren von Haaren befreit wurde. Die von Haaren befreite Impfstelle wurde mit Wasser, Seife, Alkohol und Sublimatlösung desinfiziert. Mit einem sterilen Messer oder einer sterilen Schere wurde dann die Haut 1 cm gespalten, in dem lockeren Unterhautbindegewebe eine Tasche gebildet, in die mit einer sterilen Pinzette bei den größeren Tieren mehrere, bei den Mäusen gewöhnlich ein höchstens pfefferkorngroßes Geschwulststückchen geschoben wurde. Die Schnittwunde wurde dann mit steriler Seide zugenäht.

Da diese Art der Impfung, besonders wenn große Serien von Tieren geimpft werden sollen, sehr zeitraubend und umständlich ist, so verfuhren wir bald nach der von Bashford angegebenen Methode. Ohne Zerquetschung des Tumors wurde derselbe mit einer sterilen Schere in möglichst gleichgroße Stücke (0,01—0,02 g) zerlegt. Um die einzelnen Stückchen vor Eintrocknung zu schützen, wurden sie in eine Petrischale, deren Boden mit sterilem mit 0,85% Kochsalzlösung angefeuchtetem Fließpapier bedeckt war, gelegt. Mit Hilfe eines Troikarts wurden die einzelnen Impfstücke den Mäusen unter die mit 96% Alkohol betupfte Haut eingeführt und dort ausgestoßen. Nach jeder Impfung wurde die Impfnadel über der Flamme wieder sterilisiert und in 0,85%iger Kochsalzlösung abgekühlt. In der beschriebenen Weise

[1]) Über einige dieser Versuche ist bereits in dem Verein für innere Medizin 24. Juni 1907 (siehe Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 30) sowie in der Berl. med. Gesellschaft vom 8. Juli 1908 (Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 30) ganz kurz berichtet worden.

gelingt es bequem in einer Stunde 100 Mäuse zu impfen. Eiterungen haben wir bei dieser Impfmethode, vorausgesetzt daß frisches Material zur Verimpfung kam, selten beobachtet.

Von der von Jensen, Ehrlich und Michaelis empfohlenen Methode, die Geschwulst unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung in einem Porzellanmörser zu einem Brei zu zerreiben und dann den Tieren mittels Pravazscher Spritze zu injizieren, haben wir abgesehen, da hierdurch die Zellen geschädigt werden. So konnten wir in dem von solchem Brei hergestellten mikroskopischen Präparaten oft in einem Gesichtsfeld kaum eine noch gut erhaltene Geschwulstzelle, sondern meist nur freie Kerne und Zelltrümmer wahrnehmen.

Übertragungsversuche von menschlichen und Tiergeschwülsten auf Tiere.

I.

Am 17. 10. 06 wurden 4 Affen, 4 weiße Mäuse, 2 Hunde und 4 Meerschweinchen mit etwa pfefferkorngroßen Geschwulstteilen eines wenige Stunden zuvor operativ entfernten menschlichen Magenkrebses[1]) subkutan in die rechte Mammagegend geimpft. Abgesehen von 1 Maus und 1 Affen, die an der Implantationsstelle Abszesse bekamen, fand bei den übrigen Tieren eine langsame aber vollkommene Resorption der eingeimpften Tumormassen statt. Ein Wachsen der Geschwulst oder irgendwelche wahrnehmbaren Krankheitserscheinungen sind bei keinem Tiere aufgetreten.

Um die Tiere für menschliches Karzinom empfänglicher zu machen, wurden zwei Affen und zwei Kaninchen mit Menschenblut vorbehandelt. Da man bekanntlich fremdartiges eingespritztes Eiweiß noch nach Wochen mit Hilfe der Präzipitinreaktion in den betr. Tieren nachweisen kann, so schien uns solche, wenn man so sagen darf „Humanisierung“ immerhin rationell. Die Affen wurden mit je 5 ccm Menschenserum subkutan gespritzt. Die Kaninchen wurden zu derselben Zeit mit je 2 ccm Serum intravenös geimpft. Diese Tiere sowie weitere 5 Meerschweinchen, 4 Mäuse und 3 Hunde wurden mit menschlichem Brustdrüsenkrebs geimpft. Auch dieser Versuch fiel vollkommen negativ aus; kein Tier ist erkrankt.

II.

Es wurden ferner Übertragungsversuche mit Hundetumoren[2]) angestellt. Es handelte sich um einen etwa faustgroßen Tumor eines Hundes in der Gegend der rechten Brustdrüse. Der auf seiner Unterlage leicht verschieblich und nicht mit der Haut verwachsene Tumor erwies sich bei der mikroskopischen Untersuchung als ein Adenom der Mamma. Mit frisch exstirpierten Geschwulststückchen wurden am 15. 10. 06 4 Hunde, 4 Mäuse und 4 Kaninchen subkutan in die rechte Brustdrüsengegend geimpft. Die einige Zeit nach der Implantation deutlich unter der Haut zu fühlenden Impfstücke wurden allmählich resorbiert. Ebensowenig gelang die Übertragung der Geschwulst auf eine andere Stelle des mit dem Tumor behafteten Tieres.

---

[1]) Das menschliche Krebsmaterial wurde uns in liebenswürdigster Weise von Herrn Geheimrat Prof. Körte aus dem Krankenhause am Urban in Berlin und von Herrn Prof. Riese aus dem Kreiskrankenhause in Gr. Lichterfelde zur Verfügung gestellt.

[2]) Die Tumoren verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Regenbogen in Berlin.

Gleichfalls negativ waren die am 5. 11. 06 vorgenommenen Transplantationsversuche eines malignen von der Brustdrüse ausgehenden Hundetumors.

III.

Ferner wurden Übertragungsversuche von Rindertumoren (Sarcomatose) vorgenommen. Am 5. 11. 06 wurden 2 Rinder subkutan, das eine Tier in die Gegend des Euters, das andere Tier auf dem Rücken mit etwa bohnengroßen von einer Kuh stammenden Geschwulststückchen geimpft. Ein Tier wurde gleichzeitig mit zu Brei verriebenem und in 0,85% Kochsalzlösung aufgeschwemmtem Tumorgewebe intravenös injiziert.

Ebensowenig wie bei den mit demselben Material am 5. 11. 06 geimpften Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Mäusen und Hunden gelang auch hier die Übertragung des Tumors.

IV.

Über die biologische Verwandtschaft zwischen Maus und Ratte.

Eine Reihe von Untersuchungen beschäftigten sich mit der Transplantation von Mäusetumoren auf Kaninchen, Hunde, Meerschweinchen und Ratten. So wurde am 13. 11. 06 ein Mäusetumor, der ein auffällig starkes Wachstum zeigte auf 5 weiße Ratten, 2 Kaninchen, 4 Meerschweinchen und 2 Hunde überimpft. Eine Übertragung ist nicht gelungen. Da die Ratten den Mäusen zoologisch sehr nahe stehen, so glaubten wir, daß eine Impfung von Mäusetumoren auf Ratten wohl möglich sein könne. Ebenso wie bei den anderen Tieren kamen wir aber auch hier zu vollkommen negativen Ergebnissen. Das veranlaßte uns die biologische Verwandtschaft dieser beiden Nagetiere näher zu studieren. Bei diesen Untersuchungen legten wir uns die Frage vor, ob die Mäuse und Ratten in der Tat so nahe verwandt sind, wie das im allgemeinen angenommen wird. Herr Dr. Sticker hatte sich uns gegenüber gelegentlich dahin ausgesprochen, daß seiner Ansicht nach von einer nahen Verwandtschaft keine Rede sein könne. Bei der Wichtigkeit dieser Frage für die experimentelle Krebsforschung haben wir einige diesbezügliche Versuche angestellt. Es wurden mehrere Kaninchen in Intervallen von 5 zu 5 Tagen mit je $1^1/_2$ ccm Rattenserum vorbehandelt. Da dieses Serum wegen seiner Giftigkeit von den Kaninchen sehr schlecht vertragen wird, so empfiehlt es sich nach der zweiten Injektion die Tiere nicht intravenös sondern intraperitoneal oder subkutan weiterzubehandeln. Die in dieser Weise nach der dritten und vierten Injektion gewonnenen Sera zeigten sich bei Zusatz zu Rattenblut sehr wirksam (Titer von 1 : 10000).

Es wurden nun von beiden Blutsorten (Ratte und Maus) Verdünnungen von 1 : 1000 hergestellt. Zu je 1 ccm dieser Lösungen wurde dann je 0,1 ccm des Rattenantiserums zugesetzt. In der mit Rattenblut hergestellten Verdünnung trat sofort nach Zusatz des Serums an der Berührungsschicht zwischen Lösung und Antiserum ein deutlicher, sich immer mehr verbreiternder Ring auf, der sich nach längerer Zeit als flockiger Niederschlag auf den Boden des Röhrchens absetzte. Bei der mit Mäuseblut hergestellten Verdünnung trat nach Zusatz des Rattenantiserums selbst nach

15 Minuten keine Trübung auf. Erst nach langer Zeit beobachteten wir auch hier eine ganz leichte, kaum sichtbare Trübung. Hatten wir auf Grund der allgemein bestehenden Ansicht nur auf eine ganz geringe biologische Differenz zwischen den beiden Tierarten gerechnet, so waren wir durch den Ausfall der biologischen Reaktion außerordentlich überrascht. Denn nach diesen Untersuchungen sind Ratten und Mäuse biologisch gar nicht so nahe verwandt, viel weiter wie z. B. Schaf und Rind. Denn während hier eine Differenzierung von angetrocknetem Blut selbst bei Anwendung gleichwertiger Schaf- und Rinderantisera kaum möglich ist, gelang es uns dagegen in allen Fällen angetrocknetes Blut von den Ratten- und Mäusestämmen, die für die Impfversuche in Betracht kamen, in gewöhnlicher Weise biologisch leicht zu differenzieren. Auch mit Hilfe der Komplementbindungsmethode ließen sich beide Blutarten unterscheiden[1]). Eine solche Unterscheidung ist z. B. nicht möglich bei Menschen- und Affenblut, Pferde- und Esel-, Hunde- und Fuchsblut usw. Diese Tatsache dürfte ein nicht geringes naturwissenschaftliches Interesse haben. Auf diese biologischen Unterschiede zwischen den beiden Nagetieren sind wohl z. T. die erfolglosen Übertragungeversuche von Mäusetumoren auf Ratten und umgekehrt von Rattentumoren auf Mäuse zurückzuführen. Doch ist das auch nur eine Vermutung, denn der Affe, der bezüglich seines Körpereiweißes biologisch dem Menschen viel näher steht als Maus und Ratte sich gegenseitig verhalten, ist ja auch wie es scheint unempfänglich für menschliches Karzinom, soweit aus den allerdings noch viel zu spärlichen Versuchen zu schließen ist. Auf Grund unserer Befunde erscheinen weitere Versuche, Mäusekrebse auf Ratten und umgekehrt zu übertragen, wenig aussichtsvoll. Nicht in Einklang mit unseren biologischen Befunden lassen sich die Angaben des russischen Forschers Iwanoff bringen, dem es gelungen sein will, Ratten mit Mäusen zu kreuzen. Nach den bisherigen Erfahrungen ist nach Uhlenhuth eine Kreuzung nur bei ganz nahe verwandten, auch biologisch nicht zu differenzierenden Tierarten möglich. Die Versuche von Iwanoff bedürfen dringend weiterer Bestätigung.

Experimentelle Untersuchungen über Mäusekrebs.

Durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Jensen in Kopenhagen erhielten wir eine weiße Maus mit einem erbsengroßen, ziemlich weichen, lappigen Tumor (Jensenscher Tumor).

Die Überimpfung wurde genau in der von Jensen beschriebenen Weise ausgeführt. Die Tumormaus wurde durch Chloroform getötet, in Lysolwasser gelegt, mit einem reinen Tuche abgetrocknet und auf einem Brett ausgespannt, worauf die Haut über den Tumor mittels steriler Instrumente sorgfältigst entfernt wurde. Die frei präparierte Geschwulst wurde nunmehr in einem Porzellanmörser zerquetscht und mit Kochsalzlösung gemischt. Von dieser Emulsion, die mikroskopisch aus zahlreichen

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Einstweilen hat Herr Privatdozent Dr. Trommsdorff auf meine Veranlassung hin die Frage der Verwandtschaft der Ratte und Maus weiter verfolgt. Dabei hat sich, neben einer Bestätigung unserer Befunde, u. a. die wichtige Tatsache ergeben, daß das Bluteiweiß von Maus und Ratte in Überempfindlichkeitsversuchen an Meerschweinchen nicht zu differenzieren ist. Eine ausführliche Veröffentlichung von Dr. Trommsdorff über diesen Gegenstand wird demnächst folgen. Uhlenhuth.

Zelltrümmern, freien Kernen, gut erhaltenen Krebszellen und kleinsten Gewebstückchen bestand, wurden 19 Berliner weiße Mäuse geimpft. Am 10. 11. 06, genau einen Monat nach der Impfung, entwickelte sich bei einer Maus in der rechten Achselhöhle ein bohnengroßer Tumor, der histologisch dieselbe Struktur zeigte wie der Impftumor. Auf 10 Mäuse überimpft entstanden nach etwa 14 Tagen bei zwei Tieren Geschwülste von Erbsengröße, die aber nach einiger Zeit wieder spurlos resorbiert wurden. Auf den Einfluß der Rassen- und Artdifferenzen der Mäuse bei der Entwicklung von Impftumoren werden wir unten näher eingehen.

Ebenfalls negativ waren unsere Übertragungsversuche mit zwei Spontantumoren auf weiße Mäuse. Den ersten Spontantumor erhielten wir von einem Berliner Händler am 3. 1. 07. Die Geschwulst hatte die Größe einer Bohne und war im Zentrum zerfallen. Die Randpartien des Tumors wurden auf 20 Mäuse überimpft. Im Verlauf von 14 Tagen waren sämtliche Impfstücke vollkommen resorbiert. Bei dem am 25. 4. 07 ausgeführten Impfversuch mit einem zweiten Spontantumor, entwickelten sich bei 5 von 20 Mäusen 14 bis 30 Tage nach der Impfung Tumoren, die aber, noch ehe sie die Größe einer Erbse erreicht hatten, wieder restlos resorbiert wurden.

Für unsere weiteren Untersuchungen benutzten wir fast ausschließlich Tumoren, die uns in der entgegenkommensten Weise von Herrn Dr. Bashford-London zur Verfügung gestellt wurden. Zu einigen Versuchen wurde ein uns von Herrn Prof. L. Michaelis freundlichst überlassener Tumor benutzt.

Um zu prüfen, ob die Rasse sowie das Alter der Mäuse auf die Entwicklung von Impftumoren einen Einfluß ausübt, wurden am 20. 10. 06 von einem Bashfordschen auf englischer Maus gewachsener Tumor 10 junge (etwa 5—6 Wochen alte) englische Mäuse, 10 alte englische Mäuse und 10 alte und 10 junge etwa 5—6 Wochen alte Berliner Mäuse subkutan nach dem Bashfordschen Impfmodus geimpft. Von den jungen englischen Mäusen waren 8 = 80%, von den alten englischen Mäusen 6 = 60% von den 10 alten Berliner Mäusen nur 2 = 20% und von den jungen Berliner Mäusen 3 = 30% positiv. Während die Tumoren der englischen Mäuse durchweg ein gutes Wachstum zeigten — einige waren nach etwa 4 Wochen bereits kleinwallnußgroß, die meisten etwa bohnengroß — war die Entwicklung bei den Berliner Mäusen viel unregelmäßiger und durchschnittlich langsamer. Viele Tumoren bildeten sich hier, nachdem sie etwa die Größe einer Erbse erreicht hatten, wieder spontan zurück. Ein Tumor machte allerdings eine Ausnahme, indem er ein auffällig starkes Wachstum entwickelte; am 8. 11. noch linsengroß, hatte er bereits am 16. 11. die Größe einer Wallnuß erreicht, d. h. zu einer Zeit, wo die gleichzeitig mit demselben Material geimpften englischen Mäuse höchstens bohnengroße Tumoren aufwiesen. Ziehen wir das Ergebnis aus diesem Versuch, so zeigte sich, daß die englischen Mäuse für den auf derselben Rasse gewachsenen Impftumor empfänglicher waren, als die Berliner Mäuse, denn bei jenen war die Ausbeute dreimal so groß wie bei diesen. Ähnlich wie wir das bereits bei dem Übertragungsversuch des Jensenschen Tumors auf Berliner Mäuse mitgeteilt haben, konnte auch bei dem obigen Versuch die Neigung der Impftumoren zur Rückbildung, nachdem sie eine gewisse Größe erreicht, bei der Übertragung auf einen fremden Stamm beobachtet worden. Die Ergebnisse haben wir später noch

durch weitere Reihen von Versuchen bestätigen können. Außerdem zeigten die jungen Mäuse eine größere Impfausbeute wie die alten.

Daß aber nicht allein Rassendifferenzen, sondern bereits jede Änderung der Konstitution, die durch eine veränderte Lebensweise hervorgerufen werden kann, die Geschwulstentwicklung und Übertragung derselben beeinflußt, dafür spricht vielleicht folgender Versuch.

Am 9. 1. 07 wurden 20 Kontrollmäuse, von denen 10 aus eigener Zucht, 10 nach Aussagen des Händlers aus Hamburg bezogen waren, geimpft. Während von den Berliner Mäusen 6 positiv waren, bekamen von den Hamburger Mäusen nur 2 einen Tumor, von denen sich der eine spontan zurückbildete.

Daß man die Impfausbeute durch fortgesetzte Überimpfung des Tumors bis zu einem gewissen Grade steigern kann und daß dadurch gewisse Schwankungen in der Virulenz auftreten, zeigt folgende Tabelle:

Impfausbeute bei der Überimpfung eines auf englischer Maus gewachsenen Tumors auf deutsche und englische Mäuse.

Rasse und Zahl der Mäuse	Impfgeneration	Impfausbeute in %	Beschaffenheit des Impfmaterials
20 Berliner Mäuse	I	25	Tumor ist haselnußgroß, weich, geringe zentrale Verkäsung,
„ „ „	II	50	Tumor ist erbsengroß, fest, kein zentraler Zentral,
„ „ „	III	60	desgl.
„ „ „	III	—	Tumor wallnußgroß, zentral erweicht, stammte von toter Maus und konnte erst nach 2 Tagen überimpft werden
„ „ „	IV	30	Tumor bohnengroß, zentral erweicht
„ „ „	V	60	Tumor bohnengroß, fest, ohne zentrale Erweichung
„ „ „	VI	70	desgl.
„ „ „	VII	50	desgl.
„ „ „	VII	45	desgl.
„ „ „	IX	65	desgl.
10 alte engl. Mäuse	I	60	Tumor ist haselnußgroß, weich, geringe zentrale Vergäsung
20 „ „ „	II	25	Tumor ist erbsengroß, ohne zentrale Erweichung, stammt von toter Maus
20 „ „ „	III	75	Tumor ist erbsengroß, wurde v. lebender Maus exstirpiert
10 junge „ „	I	80	Tumor ist haselnußgroß, weich, geringe zentrale Erweichung
10 „ „ „	II	50	Tumor ist erbsengroß, ohne zentrale Erweichung, stammt von toter Maus
20 „ „ „	III	85	Tumor ist erbsengroß, wurde v. lebender Maus exstirpiert

Aus obiger Tabelle ist ersichtlich, daß die Impfausbeute bei den Mäusen derselben Rasse, von der der Impftumor stammte, erheblich höher war, wie bei den Mäusen der fremden Rasse, daß aber bei weiteren Übertragungen des Tumors in der fremden Rasse, die Impfung fast in demselben Prozentsatz gelingt, wie in der Rasse, von

welcher der Primärtumor stammte. Es ist ferner, wie das zum Teil auch bereits aus der Tabelle hervorgeht und wie wir das an zahlreichen weiteren Versuchen immer wieder feststellen konnten, keineswegs für die Impfausbeute gleichgiltig, was für Tumoren verimpft werden. So eignen sich am besten solche Geschwulste, die ein möglichst schnelles Wachstum zeigen, etwa erbsengroß sind, und noch keinen zentralen Zerfall erkennen lassen. In den Fällen, bei denen wir gezwungen waren, größere, zentralzerfallene Tumoren zu verimpfen, versuchten wir mit einem scharfen Löffel das degenerierte Gewebe möglichst zu entfernen und nahmen die Impfstückchen möglichst von der Peripherie der Geschwulst. Impftumoren, die von toten oder von moribunden Mäusen stammten, gaben, da ein großer Teil der Impfstückchen vereiterte, eine viel geringere Ausbeute, als die Tumoren, die von sonst gesunden Mäusen gewonnen waren.

Um den Nachweis zu erbringen, ob das Geschlecht irgend einen Einfluß auf die Tumorempfänglichkeit der Mäuse ausübt, wurden am 9. 1. 07 36 männliche und dieselbe Anzahl weiblicher Mäuse mit demselben Material geimpft. Von den männlichen Mäusen waren 18 positiv, von den weiblichen 16; da aber von diesen Tieren 5 vorzeitig gestorben waren, so läßt sich aus der geringen Differenz kein Schluß ziehen.

Bei den Versuchsreihen, die sich mit Fragen der Heredität beschäftigten, und auf die wir später näher eingehen werden, konnten wir außerdem feststellen, daß bei trächtigen Tieren das Geschwulstwachstum viel geringer war, wie bei anderen Mäusen, und daß bei jenen häufiger eine Rückbildung stattfand. Der Grund hierfür liegt vielleicht darin, daß der Tumor infolge der Gravidität die für sein Wachstum notwendigen Nährsubstanzen nicht mehr erhält.

Im Gegensatz hierzu beobachteten wir, daß Mäuse, denen der Tumor operativ bis auf einen kleinen, der Größe der Impfstückchen etwa entsprechenden Teil entfernt war, eine auffällig starke Geschwulstentwicklung zeigten. Es ist das wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß infolge der durch die Operation gesetzten Wunde hier eine erhöhte Blutzufuhr stattfindet und dadurch günstige Ernährungsverhältnisse für die Geschwulst geschaffen werden.

Das Wachstum der Mäusegeschwulste ist ein außerordentlich großes. So hatte ein von uns geimpfter Tumor, der am 8. 11. noch linsengroß war, am 16. 11., also nach 8 Tagen, bereits die Größe einer Wallnuß erreicht. In einem andern Falle hatte sich bei einer Maus etwa 2 Monate nach der Impfung an der Brust ein so großer Tumor entwickelt, daß das Tier mit seinen Vorderbeinen nicht mehr den Boden berühren konnte. Die Maus wog mit Geschwulst 39 g, nach Herauspräparation derselben dagegen nur 18,5 g. Alle größeren Tumoren, besonders die rasch gewachsenen, zeigen eine ausgesprochene zentrale Nekrose, die oft so groß ist, daß das eigentliche Tumorgewebe nur noch aus einem schmalen Saum besteht.

Im Gegensatz zu dem menschlichen Karzinom zeigen die Mäusetumoren eine verhältnismäßig geringe Neigung Metastasen zu bilden.

Während wir bei unsern allerdings nur sehr wenigen Spontantumoren keine Metastasenbildung beobachtet haben, konnten wir bei unsern Impftumoren zweimal eine makroskopisch sichtbare Metastase in den Lungen, einmal in einer regionären Drüse feststellen. Bei diesen Fällen handelte es sich jedesmal um Mäuse mit ganz

alten primären Impftumoren. Der Versuch, die Lungenmetastasen zu transplantieren mißglückte, da sämtliche geimpften Mäuse innerhalb weniger Tage an Sepsis starben. Günstiger fiel der Impfversuch mit der Drüsenmetastase aus; sie wurde auf 4 Mäuse überimpft; der bei einer Maus nach 14 Tagen sich entwickelnde kirschkerngroße Tumor wurde am 16. 11. 08 auf 10 Mäuse weiterverimpft, die aber leider vorzeitig an Mäusetyphus zugrunde gingen.

Um die Einwirkung höherer Temperaturen auf das Wachstum der Tumoren zu prüfen, wurden am 12. 11. 06 30 Berliner Mäuse mit einem Tumor geimpft, der 50% Ausbeute gab. 10 Mäuse davon wurden mit einem Material geimpft, welches 25 Minuten auf 56° erwärmt war, 10 Mäuse bekamen Gewebe, das 25 Minuten einer Temperatur von 45° ausgesetzt gewesen war, die letzten 10 Mäuse wurden mit nicht erwärmtem Material behandelt. Während von den ersten 10 Mäusen kein Tumor anging, waren bei den zweiten 10 Mäusen 4, bei den dritten 10 Mäusen 5 positiv. Ähnliche Untersuchungen sind von Jensen und Michaelis augestellt worden. Nach Jensen war die Einwirkung von 45—46° nicht imstande, das Geschwulstgewebe zu töten; bei Temperaturen dagegen von 47° und darüber erhielt er stets negative Resultate. Michaelis fand ebenfalls, daß $^1/_4$stündiges Erwärmen auf 46°, sowie $^1/_2$stündiges auf 43° dem Wachstum der Geschwulstzellen nichts schadet.

Besonderes Interesse dürften die Untersuchungen über die Einwirkungen von niederen Temperaturen auf die Tumorzellen darbieten. Wir selbst konnten Geschwülste, die am 16. 12. 06 steril entnommen und in einer Kältemischung von Eis und Kochsalz weit unter 0 Grad mehrere Tage aufbewahrt waren, in Übereinstimmung mit andern Forschern noch mit Erfolg überimpfen.

Versuche über angeborene und erworbene Immunität bei Mäusen.

Zur Beurteilung der Frage, ob die Tatsache, daß Tiere, die einmal erfolglos geimpft waren und auch bei mehrfach wiederholter Nachimpfung keine Geschwulstentwicklung zeigen auf eine angeborene oder künstlich erworbene Immunität zurückzuführen sei, wird folgender Versuch angestellt.

Am 9. 1. 06 wurden 20 Mäuse, die bei der ersten Impfung negativ gewesen waren, mit demselben Tumorstamm zum zweiten Mal nachgeimpft. Während von den gleichzeitig geimpften 20 Kontrollmäusen 50 % positiv waren, erhielten wir bei den Versuchsmäusen nur eine Impfausbeute von 10 %.

Fast gleichzeitig am 14. 1. 07 wurden 22 Mäuse, die bei der ersten Impfung einen Tumor bekommen hatten, der sich aber wieder vollkommen zurückgebildet hatte, mit demselben Stamm nachgeimpft. Bei zwei Mäusen war die Nachimpfung positiv, bei den 22 Kontrollmäusen erhielten wir bei 12 Tieren einen Tumor.

Bei einer am 14. 1. 07 vorgenommenen Nachimpfung von 13 Mäusen, bei denen sich ebenfalls der Tumor spontan zurückgebildet hatte, mit einem anderen Tumorstamm (Stamm Michaelis), wie bei der ersten Implantation (Stamm Bashford) waren 40 % positiv, von 13 Kontrollen dagegen etwa 75—80 %.

Wir haben uns weiter mit der Frage der angeborenen Immunität beschäftigt.

Zu diesem Zwecke wurden eine Reihe von Versuchen darüber angestellt, ob die Heredität irgend einen Einfluß auf das Wachstum der Tumoren ausübt.

Am 9. 1. 07 wurden 36 weibliche Mäuse, die um Trächtigkeit mit Sicherheit ausschließen zu können, seit 1. 12. 06 isoliert waren, mit mehreren Tumoren desselben Stammes geimpft. Gleichzeitig wurden 36 männliche Mäuse mit demselben Material geimpft. Um bei den Versuchs- und Kontrolltieren möglichst gleiche Gewebsstückchen zu verimpfen, wurde abwechselnd ein Versuchstier, sodann das Kontrolltier geimpft. Am 29. 1. 07 wurden dann vier weibliche Mäuse, bei denen sich erbsengroße Tumoren entwickelt hatten, mit einer der männlichen Kontrollmäuse, die ebenfalls einen Tumor von gleicher Größe zeigte, zusammengesetzt. Am 20. 2. und am 22. 2. konnten wir bei 2 Mäusen Trächtigkeit feststellen. Ein weiteres Wachstum der Tumoren der trächtigen Mäuse hatten wir im Gegensatz zu den 3 anderen nicht trächtigen Tumormäusen, nicht feststellen können. Im Gegenteil bildeten sich seit etwa dem 20. 2. bei den trächtigen Tieren die Tumoren immer mehr zurück. Bei den Würfen, die am 5. und 7. 3. erfolgten, waren die Geschwülste in dem einen Falle pfefferkorn-, in dem andern hanfkorngroß.

Am 10. 4. wurden 9 der von den Tumormäusen stammenden Jungen, gleich zeitig mit 9 Kontrollmäusen derselben Größe und desselben Alters geimpft. Von den „hereditär belasteten“ Mäusen bekamen 7 Mäuse einen Tumor, von den Kontrollen 5. Ferner zeigte sich, daß die Wachstumsenergie bei den hereditärbelasteten Mäusen etwas größer war wie bei den Kontrollen, außerdem war die beginnende Geschwulstentwicklung bei den hereditär belasten Mäusen einige Tage früher wie bei den Kontrollen wahrnehmbar.

Bei einer andern Versuchsreihe, bei der nur Mäuse benutzt wurden, die von tumorkranken Müttern stammten, konnte ebenfalls ein das Wachstum begünstigender Einfluß wahrgenommen werden. Aus diesen Versuchen, die allerdings an einem viel größeren Material zu wiederholen sind, geht hervor, daß die Heredität vielleicht eine gewisse Disposition für die Tumorempfänglichkeit den Mäusen verleiht. Bindende Schlüsse wollen wir aus diesen wenigen Versuchen noch nicht ziehen.

Um zu prüfen, ob Mäuse die bereits einen Tumor haben, sich gegenüber einer zweiten Impfung refraktär verhielten wurden 10 Tumormäuse, die am 15. 1. 07 geimpft waren und die kleinere und größere Tumoren hatten an einer entfernt gelegenen Körperstelle nachgeimpft. In zwei Fällen erhielten wir positive Resultate, während von den Kontrollen vier positiv waren.

Über Immunisierungsversuche gegen Mäusekrebs.

Zur Prüfung, ob eine Immunisierung mittels durch Hitze geschädigten Geschwulstmaterials möglich sei, wurden am 12. 11. 06. 10 Mäuse mit Material geimpft, welches 25 Minuten auf 58 ° erwärmt war. Von den vorbehandelten am 20. 12. nachgeimpften Mäusen waren 3 positiv, während von den 10 Kontrolltieren 4 einen Tumor bekamen. Da diese Unterschiede aber verhältnismäßig gering sind und außerdem an einer kleinen Versuchsreihe festgestellt wurden, so läßt sich aus

diesem Versuch kein Schluß ziehen. Michaelis konnte bei ähnlichen Versuchen eine relative Immunität feststellen. Dagegen fielen seine Versuche, Mäuse mit durch Chloroform abgeschwächtes Tumormaterial zu immunisieren, vollständig negativ aus.

Weitere Immunisationsversuche wurden von uns mit Organsaft von gesunden und Tumormäusen ausgeführt. Am 6. 12. 06 wurden 20 Mäuse mit steril gewonnenem Organsaft (Leber, Lunge, Herz, Niere, Milz) von gesunden Mäusen innerhalb von zehn Tagen dreimal subkutan vorbehandelt und am 27. 12. nachgeimpft. Bei den vorbehandelten Tieren erhielten wir eine Ausbeute von 30 %, bei den Kontrollen von 50 %. Bei den vorbehandelten Mäusen bildeten sich zwei Tumore von etwa Erbsengröße zurück. Gleichzeitig wurden 20 Mäuse, die in derselben Weise mit Organsaft von Tumormäusen vorbehandelt waren, am 30. 1. 07 mit einem gut transplantablen Tumor geimpft. Von den vorbehandelten Tieren waren 9 positiv, die Tumoren zeigten durchweg ein gutes Wachstum, von den 20 Kontrollen 8.

Bei der Nachprüfung der von Bashford u. a. ausgeführten Immunisierung mit Mäuseblut, bekamen bei den von uns vorbehandelten 20 Tieren 6 einen Tumor, von den 20 Kontrolltieren dagegen 12.

Die zuerst von Schöne mitgeteilte Wahrnehmung, daß durch Impfung mit Mäuseembryonen eine gewisse Immunität hervorgerufen wird, konnten wir bei unseren Versuchen bestätigen. Zur Vorbehandlung der Mäuse wurden steril entnommene Mäusebryonen zerrieben und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von der Flüssigkeit wurden 20 Mäuse am 17. 1., 21. 1. und 26. 1. 07 subkutan mit je 1 ccm gespritzt. Die vorbehandelten Mäuse wurden gleichzeitig mit 20 Kontrollmäusen mit Material desselben Tumors am 4. 2. 07 geimpft. Während von den Kontrollmäusen 8 positiv waren und ein gutes Geschwulstwachstum zeigten, waren von den vorbehandelten Mäusen nur 3 positiv. Die Tumoren entwickelten sich außerdem auch viel langsamer, sie blieben im Wachstum den Kontrollmäusen gegenüber etwa drei Wochen zurück.

Negativ sind die Immunisirungsversuche mit Mäuselinsen ausgefallen. Dieses Material erschien uns besonders geeignet, da die Linse ein rein epitheliales Organ darstellt. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß 15 Mäuse mit einer Verreibung von Mäuselinsen in physiologischer Kochsalzlösung am 4. 3., 16. 3. und 24. 3. 07 subkutan mit je 1 ccm geimpft wurden. Nach der am 1. 4. 07 vorgenommenen Impfung entwickelten sich ebenso wie bei den Kontrollmäusen vier Tumoren. Ein Wachstumunterschied der Geschwülste von den vorbehandelten und Kontrollmäusen konnte nicht festgestellt werden.

Durch wiederholte Fütterung der Mäuse mit Geschwulstmaterial ist uns bisher keine Immunisierung gelungen. 10 Mäuse wurden in der Zeit vom 30. 11. bis 29. 12. 06 achtmal mit Mäusetumormaterial, das zu diesem Zwecke in etwa hagelkorngroße Stücke zerkleinert war, gefüttert, Am 5. 1. 07 wurden die Tiere gleichzeitig mit 10 Kontrollmäusen geimpft. Von vorbehandelten Mäusen bekamen 2 von den Kontrollmäusen 3 einen Tumor. Die Versuche werden fortgesetzt

Ebenso erfolglos sind unsere Immunisierungsversuche mit fremdem Ei-

weiß normaler Tiere (Rinder-, Schweine-, Kaninchen-, Hammelserum) sowie mit menschlichem Karzimonsaft ausgefallen.

Von 20, am 8. 12., 19. 12. und 30. 12. 07 mit menschlichem Krebssaft vorbehandelten Tieren waren nach der am 5. 1. erfolgten Impfung 4 positiv, von den Kontrollen 5. Im Wachstum war kein Unterschied wahrzunehmen.

Therapeutische Versuche.

Die Anwendung des Arsens in der Therapie der Geschwülste legte den Gedanken nahe, das Atoxyl auch bei den Mäusetumoren anzuwenden. Um zu prüfen, ob das Präparat eine schützende Wirkung Geschwülsten gegenüber besitzt, wurde am 30. 11. 06 folgender Versuch angesetzt:

20 Mäuse wurden jeden dritten Tag mit 0,5 ccm einer 1 %igen Atoxyllösung (— 0,005 g) subkutan geimpft. Am 12. 12. 07 wurden die Mäuse, sowie gleichzeitig 20 Kontrolltiere mit demselben Tumor geimpft. Die vorbehandelten wurden dann regelmäßig jeden dritten bis vierten Tag mit 0,005 g Atoxyl weiter gespritzt bis zu 14 Injektionen. Bei den mit dem Arsenpräparat vorbehandelten Mäusen erhielten wir eine Impfausbeute von 25 %, bei den Kontrollmäusen nur 20 %. Was das Wachstum anbelangt, so war dasselbe bei den Atoxyltieren besser als bei den Kontrollmäusen.

Ein zweiter Versuch vom 17. 12. 06 wurde in der Weise ausgeführt, daß wir einige Mäuse auswählten, die einen gleichgroßen Tumor von gutem Wachstum zeigten. Ein Teil der Mäuse diente zur Kontrolle, der andere wurde jeden dritten Tag in der oben angegebenen Weise mit Atoxyl behandelt. Es zeigte sich hierbei nun, daß das Wachstum bei den mit Arsen behandelten Mäusen besser war, wie bei den Kontrolltieren. Die behandelten Tiere hatten nach etwa einmonatlicher Behandlung durchschnittlich einen fast doppelt so großen Tumor wie die Kontrollmäuse.

Nachtrag bei der Korrektur: Unsere experimentellen Tumorstudien haben wir einstweilen gemeinsam mit den Herren Händel und Trommsdorff fortgesetzt und dabei als Material insbesondere einen uns in der bekannten liebenswürdigen Weise von Herrn Dr. Bashford-London überlassenen Rattentumor (Spindelzellensarkom) benutzt, der durch starke Wachstumsintensität ausgezeichnet war und in einigen der angesetzten Tierserien in 100 % anging. Unter anderem haben wir ausgedehnte Immunisierungs- und Heilversuche angestellt. Von letzteren möchten wir hier erwähnen die lokale Behandlung mit Pyocyanase. Es gelang durch solche, z. T. schon wallnußgroße Tumoren völlig zum Verschwinden zu bringen, ohne daß bisher Rezidive eintraten. Unter den Tumoren der Kontrolltiere derselben Serien wurde eine spontane Rückbildung in keinem Falle beobachtet. Bei 12 Ratten, die im Endstadium der Tumorerkrankung auf komplementbindende Antikörper von Dr. Trommsdorff untersucht wurden, war das Resultat negativ. Weitere systematische Untersuchungen werden später veröffentlicht werden. Uhlenhuth.